

Efeito da adição de glucomanano modificado em dietas contendo aflatoxina sobre parâmetros clínicos de ovinos

Effect of the modified glucomannan in diets containing aflatoxin on the clinical parameters in sheep

Viviane Rohrig RABASSA¹; Eduardo SCHMITT¹; Luiz Francisco Machado PFEIFER¹; Talita Bandeira ROOS¹; Augusto Schneider¹; José Wilson da SILVA NETO¹; Lucas Teixeira HAX¹; Elisângela Mirapalheta MADEIRA¹; Tatiane Camacho MENDES¹; Marcio Nunes CORRÊA¹

¹ Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, Brasil

Resumo

O objetivo deste estudo foi determinar o efeito do adsorvente (ADS) glucomanano modificado sobre parâmetros clínicos, hematológicos e ruminais de ovinos submetidos a dietas contendo aflatoxina (AFLA). Foram utilizadas 22 ovelhas mestiças (Corriedale e Texel), com 18 meses de idade. Os animais foram divididos em quatro grupos, de acordo com a adição de AFLA (1,5 PPM) ou ADS (2 PPM) na fração concentrada da dieta: animais recebendo AFLA na dieta (AFLA; n=6); animais recebendo AFLA e ADS na dieta (AFLA/ADS; n=6); animais recebendo ADS na dieta (ADS; n=5) e grupo controle, sem adição de ADS ou AFLA na dieta (CONTROLE; n=5). As dietas foram fornecidas por um período de 42 dias. Foram realizadas coletas de fluido ruminal a cada sete dias e avaliações clínicas (exame físico geral, urinálise e hemograma) a cada 10 dias. Quanto ao perfil leucocitário, a suplementação com adsorvente aumentou a concentração plasmática de eosinófilos. Os demais parâmetros clínicos e ruminais não foram influenciados pela presença do adsorvente ou da aflatoxina na dieta. Assim, o adsorvente glucomanano modificado influenciou a resposta leucocitária de ovinos, porém sem efeito na função ruminal e nos parâmetros clínicos avaliados.

Palavras-chave: Micotoxina. Adsorvente. Leucócitos. Rúmen. Ovelha.

Abstract

The aim of this study was to determine the effect of modified glucomannan adsorbent (ADS) on the clinical, hematological and ruminal parameters in sheep subjected to diets containing aflatoxins (AFLA). Twenty two crossbred ewes (Corriedale vs Texel), aging 18 months were separated into four groups according to the addition of AFLA (1,5 PPM) or ADS (2 PPM) in the concentrate portion of the diet: animals receiving AFLA in the diet (AFLA; n=6); animals receiving AFLA and ADS in the diet (AFLA/ADS; n=6); animals receiving ADS in the diet (n=5) and control group, without addition of the ADS or AFLA in the diet (CONTROL; n=5). The diets were supplied during 42 days. Ruminal fluid was collected and analysed every seven days and the clinical evaluations (clinical examination, urinalysis, and hemogram) every 10 days. The addition of adsorbent increased the plasmatic concentration of eosinophiles. Clinical and ruminal parameters were not affected by the presence of adsorbent or aflatoxin into the diet. The modified glucomannan adsorbent influenced the leukocyte response of sheep, but no effect on ruminal function and clinical parameters.

Keywords: Mycotoxin. Adsorbent. Leucocytes. Rumen. Ewe.

Introdução

A aflatoxina é uma das principais micotoxinas encontradas em alimentos conservados, sendo causadora de severas lesões hepáticas em animais de produção, levando a perdas produtivas por diminuição no ganho de peso e eficiência da conversão alimentar¹. Esta micotoxina, produzida por fungos do gênero *Aspergillus*, também apresenta efeito sobre a microbiota ruminal, através da inibição de algumas

bactérias, provocando alterações no crescimento e na atividade metabólica dos microrganismos ru-

Correspondência para:

Viviane Rohrig Rabassa
Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária
Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC), sala 8A -
Campus Universitário
96010 900 - Pelotas/RS - Brasil
e-mail: nupeec@ufpel.edu.br
www.ufpel.edu.br/nupeec

Recebido: 02/05/2011

Aprovado: 31/10/2012

minais², podendo levar a prejuízos na digestibilidade de alimentos³. Além das alterações digestórias, a aflatoxina suprime a resposta imune de ovinos⁴, podendo causar uma maior predisposição a alterações clínicas de origem infecciosa. Apesar da supressão da imunidade celular e dos efeitos sobre a imunidade humoral já terem sido descritos⁵, a maioria dos estudos avaliando o efeito da intoxicação sub-aguda foi realizado em animais de laboratório, havendo poucos estudos em ruminantes⁶.

Substâncias adsorventes podem ser utilizadas para controlar as micotoxicoses, as quais são incluídas na dieta e atuam impedindo a absorção intestinal de micotoxinas⁷. Dentre estas substâncias, o glucomanano modificado, obtido a partir de leveduras, em especial a *Saccharomyces cerevisiae*, tem sido amplamente estudado nas últimas décadas, principalmente em aves e suínos⁸, porém, com poucos estudos realizados em ruminantes⁹.

Baseado nestas considerações, a aflatoxina pode apresentar influência negativa sobre a produtividade de ruminantes confinados desafiados com micotoxinas, através de seus efeitos sobre a atividade da microbiota ruminal e resposta imune. Estes efeitos podem ser minimizados pela ação adsorvente do glucomanano modificado, quando adicionado à dieta de ruminantes. Desta forma, o objetivo deste estudo foi determinar o efeito do adsorvente glucomanano modificado sobre parâmetros clínicos, hematológicos e ruminais de ovinos submetidos a dietas contendo aflatoxina.

Material e Método

Todos os procedimentos relacionados a este experimento foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), em 27 de março de 2007 (protocolo nº 010/2006).

Este experimento foi realizado no Setor de Ovinos do Hospital de Clínicas Veterinária da UFPel, Pelotas/RS.

Foram utilizadas 22 ovelhas mestiças (Corriedale vs Texel), com idade média de 18 meses e peso corporal médio de 47,4 kg. As ovelhas foram mantidas confinadas, recebendo dieta à base de feno de alfafa, feno de tifton e 1,5% do peso vivo de concentrado (Tabela 1). A dieta final obtida apresentou uma relação volumoso/concentrado de 65/35¹⁰.

As fêmeas foram distribuídas em quatro grupos, de acordo com a condição corporal (escala de 1 a 5)¹¹ e peso, sendo: 1) Grupo Aflatoxina (AFLA, n=6), com adição de 1,5 PPM de aflatoxina na fração concentrada da dieta; 2) Grupo Aflatoxina + adsorvente (AFLA/ADS, n=6), com adição de 1,5 PPM de aflatoxina e 2 PPM de adsorvente (Mycosorb®, Alltech Inc., Lexington, USA) na fração concentrada da dieta; 3) Grupo Adsorvente (ADS, n=5), com adição de 2 kg/ton de adsorvente na fração concentrada da dieta e 4) Grupo Controle (C, n=5), sem adição de micotoxina ou adsorvente na dieta.

A aflatoxina foi produzida pelo Laboratório de Análises Micotoxicológicas – UFSM (LAMIC), sendo obtida pela metodologia de extração, clarificação

Tabela 1 - Análise bromatológica da dieta utilizada durante o período experimental – Pelotas - 2011

Composição	Feno de alfafa	Feno de tifton	Concentrado
Matéria seca (%)	90,5	85,8	87,5
Proteína bruta (%)	19,2	5,8	15,0
Fibra bruta (%)	36,3	25,7	13,0
Cinzas (%)	8,5	4,8	12,0
Extrato etéreo (%)	1,3	0,7	2,0
Cálcio (%)	1,4	0,9	1,5
Fósforo (%)	0,2	0,1	0,9

e derivação totalmente automatizada, e análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), obtendo-se uma concentração de 224,75 mg/kg. A concentração de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 foi de 84%, 5,4%, 9,1% e 1,5%, respectivamente.

As fêmeas foram adaptadas à dieta por um período de 21 dias antes da inclusão das micotoxinas e do adsorvente, sendo considerado o dia zero do experimento o dia do início do fornecimento dos tratamentos (aflatoxina e/ou adsorvente). No início e ao final do período de fornecimento das dietas, foi realizado exame coproparasitológico em todos os animais.

As coletas de fluido ruminal e pesagem dos animais foram realizadas a cada sete dias após o dia zero, por um período de 42 dias, totalizando seis coletas. Ainda, foram realizadas coletas de urina para urinálise e sangue para hemograma, bem como exame físico para determinação da temperatura retal, coloração de mucosa ocular e movimentos ruminais (MR), a cada 10 dias. Estas avaliações serviram para monitoramento de ocorrências clínicas. A coloração da mucosa foi classificada em fisiológica (rósea) ou alterada (avermelhada ou esbranquiçada). Da mesma forma, os MR foram classificados como dentro dos padrões fisiológicos (2-3 MR em 2 minutos) ou apresentando alteração (0-1 MR em 2 minutos)¹².

O fluido ruminal foi coletado através de sonda oro-gástrica, sendo realizados os testes de sedimentação/flutuação, oxirredução (redução do azul de metileno 0,02%), avaliação da concentração dos protozoários e do pH ruminal¹³.

Para a realização de hemograma, foram coletados 5 mL de sangue em tubos com anticoagulante (EDTA 10%). As amostras de sangue foram utilizadas para a determinação do leucograma (neutrófilos segmentados, linfócitos, eosinófilos e leucócitos totais), eritrograma (eritrócitos, hemoglobina e hematócrito) e concentração de proteínas plasmáticas totais (PPT)¹⁴.

As coletas de urina foram obtidas através de sondagem uretral, sendo realizadas avaliações de cor, odor,

aspecto, pH, determinação da densidade e da concentração de substâncias excretadas na urina (proteína, glicose, corpos cetônicos, nitritos, pigmentos biliares, urobilinogênio, leucócitos, hemoglobina e sangue), através de fita reagente. A coloração da urina foi classificada em amarelo ouro ou incolor, enquanto seu odor foi categorizado em *sui generis* ou amoniacal. O aspecto da urina foi classificado em límpido ou turvo. As concentrações de proteína, glicose, corpos cetônicos, nitritos, pigmentos biliares, urobilinogênio, leucócitos, hemoglobina e sangue na urina foram categorizados em negativo ou positivo, de acordo com o resultado observado na fita reagente¹⁵.

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa Statistical Analysis System (SAS)¹⁶. Análises envolvendo medidas repetidas no tempo, assim como parâmetros ruminais (testes de sedimentação/flutuação, teste de oxirredução, avaliação da concentração dos protozoários e pH ruminal) e clínicos (temperatura retal e movimentos ruminais), avaliações sanguíneas (leucograma, eritrograma e PPT) e urinárias (pH e determinação da densidade) foram comparadas entre os grupos através do Mixed Procedure para medidas repetidas, avaliando os efeitos principais de tratamento e tempo e suas interações. Para as variáveis binomiais que foram categorizadas de acordo com a presença de alteração clínica (exame clínico: coloração de mucosa; urina: cor, odor, aspecto, presença de proteína, glicose, corpos cetônicos, nitritos, pigmentos biliares, urobilinogênio, leucócitos, hemoglobina e sangue) foram utilizados os testes de Qui-quadrado e Exato de Fisher.

Resultados

O grupo ADS apresentou maiores concentrações de eosinófilos (Tabela 2), sendo maior do que a concentração detectada nos grupos que não receberam o adsorvente ($P = 0,02$), porém, não diferindo do Grupo AFLA/ADS. As concentrações de linfócitos ten-

deram a ser maiores no grupo ADS do que nos Grupos AFLA/ADS e C (Tabela 2; $P = 0,09$). Os níveis de PPT (AFLA: $7,6 \pm 0,3$ g/dL; AFLA/ADS: $7,0 \pm 0,3$ g/dL; ADS: $7,3 \pm 0,3$ g/dL; C: $6,6 \pm 0,4$ g/dL), bem como os demais parâmetros do leucograma (Tabela 2) e do eritrograma (Tabela 3) não apresentaram diferença entre grupos ($P > 0,05$).

No exame coprológico não houve diferença entre grupos ($P > 0,05$) quanto ao número de ovos por grama de fezes (OPG), sendo que todos apresentaram valores inferiores a 500 OPG nas duas coletas¹⁷.

A ocorrência de amostras de urina com reação positiva para presença de leucócitos foi de 5,5% no grupo AFLA, 5,9% no grupo AFLA/ADS, 13,3% no grupo ADS e 6,7% no grupo C, não havendo diferença entre grupos ($P > 0,05$). Da mesma forma, a ocorrência de corpos cetônicos (AFLA: 11,1%; AFLA/ADS:

0,0%; ADS: 0,0%; C: 6,7%), nitrito (AFLA: 5,5%; AFLA/ADS: 0,0%; ADS: 0,0%; C: 0,0%), pigmentos biliares (AFLA: 16,7%; AFLA/ADS: 11,8%; ADS: 0,0%; C: 13,3%), proteína (AFLA: 16,7%; AFLA/ADS: 23,5%; ADS: 13,3%; C: 20,0%), sangue (AFLA: 61,1%; AFLA/ADS: 52,9%; ADS: 73,3%; C: 66,7%) e urobilinogênio (AFLA: 16,7%; AFLA/ADS: 0,0%; ADS: 0,0%; C: 0,0%) não apresentaram diferença entre grupos ($P > 0,05$). Não foram observados casos de alterações nos níveis urinários de hemoglobina e glicose, em todos os grupos. A ocorrência de alterações na coloração da urina (AFLA: 22,2%; AFLA/ADS: 23,5%; ADS: 20,0%; C: 46,7%), presença de odor amoniacal (AFLA: 0,0%; AFLA/ADS: 5,9%; ADS: 0,0%; C: 6,7%), de aspecto turvo (AFLA: 5,5%; AFLA/ADS: 41,2%; ADS: 46,7%; C: 20,0%), valores médios de pH (AFLA: $7,7 \pm 0,2$; AFLA/ADS: $8,0 \pm 0,2$;

Tabela 2 - Valores médios (\pm erro padrão da média) do leucograma de ovinos suplementados com glucomanano modificado em dietas contendo aflatoxina ($n=22$) – Pelotas - 2011

Parâmetros	AFLA ¹	AFLA/ADS ²	ADS ³	Controle ⁴	Valor de P		
					Grupo	Coleta	Grupo*Coleta
Eosinófilos (/μL)	$22,9 \pm 18,7^b$	$44,5 \pm 40,4^{ab}$	$113,6 \pm 53,1^a$	$25,3 \pm 11,3^b$	0,02	0,31	0,97
Linfócitos (/μL)	$3268,8 \pm 125,8^b$	$3900,4 \pm 326,4^{ab}$	$5511,2 \pm 224,9^a$	$4262,2 \pm 342,6^{ab}$	0,09	0,08	0,67
Neutrófilos Segmentados (/μL)	$2142,8 \pm 351,5^a$	$2645,8 \pm 351,5^a$	$2152,3 \pm 351,5^a$	$2268,7 \pm 372,8^a$	0,86	<0,001	0,008
Leucócitos totais (/μL)	$5441,6 \pm 617,3^a$	$6600,0 \pm 665,8^a$	$7775,0 \pm 233,3^a$	$6600,0 \pm 520,6^a$	0,50	0,001	0,03

Valores com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

¹Dieta contendo aflatoxina; ² Dieta contendo aflatoxina e adsorvente; ³ Dieta contendo adsorvente; ⁴ Dieta sem adição de aflatoxina e adsorvente

Tabela 3 - Valores médios (\pm erro padrão da média) do eritrograma de ovinos suplementados com glucomanano modificado em dietas contendo aflatoxina ($n=22$) – Pelotas - 2011

Parâmetros	AFLA ¹	AFLA/ADS ²	ADS ³	Controle ⁴	Valor de P		
					Grupo	Coleta	Grupo*Coleta
Eritrócitos ($10^6/\mu\text{L}$)	$6,7 \pm 0,3^a$	$6,9 \pm 0,3^a$	$7,1 \pm 0,3^a$	$7,5 \pm 0,4^a$	0,55	0,003	0,81
Hemoglobina (g/dL)	$9,0 \pm 0,4^a$	$9,2 \pm 0,4^a$	$9,5 \pm 0,4^a$	$10,0 \pm 0,5^a$	0,54	0,003	0,82
Hematócrito (%)	$33,7 \pm 1,7^a$	$34,7 \pm 1,7^a$	$35,5 \pm 1,7^a$	$37,5 \pm 2,1^a$	0,55	0,003	0,81

Valores com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

¹Dieta contendo aflatoxina; ² Dieta contendo aflatoxina e adsorvente; ³ Dieta contendo adsorvente; ⁴ Dieta sem adição de aflatoxina e adsorvente

ADS: $7,6 \pm 0,2$; C: $7,9 \pm 0,2$) e densidade urinária (AFLA: $1008,6 \pm 26,5$; AFLA/ADS: $1007,9 \pm 27,2$; ADS: $1010,0 \pm 29,0$; C: $946,7 \pm 29,0$) também não diferiram entre grupos ($P > 0,05$).

Não foi observado efeito da aflatoxina e do adsorvente sobre a atividade da microbiota ruminal (Tabela 4). O tempo de oxirredução tendeu a ser maior no grupo C em comparação ao grupo AFLA/ADS ($P = 0,07$). Os demais parâmetros clínicos avaliados também não sofreram influência da presença do adsorvente e/ou da aflatoxina na dieta.

Quanto à avaliação física, o grupo AFLA apresentou uma taxa de 20,8 % de MR alterados, não havendo diferença em relação aos grupos AFLA/ADS (37,5 %), ADS (30,0 %) e C (25,0 %) ($P > 0,05$). Em relação à coloração de mucosa, foi observada uma taxa de 8,3 % de alteração (mucosas avermelhadas ou esbranquiçadas) no grupo AFLA, não diferindo dos grupos AFLA/ADS (16,7 %), ADS (35,0 %) e C (25,0 %) ($P > 0,05$). As temperaturas retais médias dos grupos não diferiram entre si ($P > 0,05$), sendo de: AFLA $39,6^\circ\text{C}$, AFLA/ADS $39,5^\circ\text{C}$, ADS $39,5^\circ\text{C}$ e C $39,4^\circ\text{C}$.

Discussão

Durante o período do experimento, não houve ocorrência de alterações clínicas com a presença de aflato-

xina na dieta, como doenças infecciosas desencadeadas por imunossupressão, tais como observado em outras espécies^{18,19}. No entanto, pôde ser observado efeito do adsorvente sobre a resposta leucocitária, demonstrando que o glucomanano modificado pode auxiliar na resposta imune contra patógenos, como demonstrado pelos maiores níveis de eosinófilos e linfócitos no grupo ADS. Contudo, todos os parâmetros leucocitários se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie¹⁵, concordando com a ausência de manifestações clínicas.

A eosinofilia tem sido relacionada positivamente com a resistência às infestações parasitárias^{20,21}, visto que, animais com eosinofilia têm resposta imune mais efetiva contra os parasitas, eliminando estes mais rapidamente. A presença de parasitos gastrointestinais estimula a produção de interleucina 4 (IL-4) e interleucina 5 (IL-5) pelos linfócitos T-helper, as quais fazem quimiotaxia e ativação de eosinófilos, permitindo que estes se liguem ao imunocomplexo e secretem grânulos com componentes enzimáticos, levando à destruição do parasita²².

Polissacarídeos isolados da parede celular de leveduras, assim como glucomananos, β -glucanos, mananos e suas associações, apresentam diversas ações conhecidas no organismo, entre elas, a modulação

Tabela 4 - Valores médios (\pm erro padrão da média) de parâmetros ruminiais de ovinos suplementados com glucomanano modificado em dietas contendo aflatoxina (n=22) – Pelotas - 2011

Parâmetros	AFLA ¹	AFLA/ADS ²	ADS ³	Controle ⁴	Valor de P		
					Grupo	Coleta	Grupo*Coleta
pH	$6,9 \pm 0,1^a$	$6,9 \pm 0,1^a$	$6,8 \pm 0,1^a$	$7,0 \pm 0,1^a$	0,27	0,001	0,26
Sedimentação/ flutuação (min)	$2,1 \pm 0,2^a$	$2,5 \pm 0,2^a$	$2,1 \pm 0,2^a$	$2,7 \pm 0,2^a$	0,31	<0,001	0,26
Oxirredução (min)	$1,6 \pm 0,2^{ab}$	$1,5 \pm 0,2^b$	$1,6 \pm 0,2^{ab}$	$2,2 \pm 0,2^a$	0,07	<0,001	0,63
Concentração de protozoários/mL	1198614 ± 144545^a	944692 ± 141417^a	1252760 ± 154915^a	1163630 ± 154916^a	0,46	<0,001	0,01

Valores com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

1Dieta contendo aflatoxina; 2 Dieta contendo aflatoxina e adsorvente; 3 Dieta contendo adsorvente; 4 Dieta sem adição de aflatoxina e adsorvente

do sistema imune²³. Apesar do glucomanano modificado ser utilizado como adsorvente na alimentação animal, visando a eliminação de micotoxinas do trato gastrointestinal, este também demonstrou influência sobre a resposta imune no presente estudo, como demonstrado pela ocorrência de eosinofilia e linfocitose no grupo ADS. Provavelmente, o adsorvente auxiliou na apresentação de parasitos gastrointestinais ao sistema imune, gerando uma resposta leucocitária mais eficiente. Ainda, a ausência de diferença entre grupos, quanto aos níveis de OPG e parâmetros do eritrograma, como indicativo de anemia, confirma que a resposta leucocitária se deve ao uso do adsorvente e não a uma diferente carga parasitária entre grupos. Desta forma, o glucomanano modificado pode exercer outros efeitos benéficos sobre animais de produção, além da adsorção de micotoxinas, necessitando que novos estudos sejam realizados para confirmação desta hipótese.

Não foi observado efeito da aflatoxina sobre a função ruminal, diferindo dos resultados encontrados em outros estudos^{2,3}, onde a atividade da microbiota ruminal foi parcialmente inibida. Provavelmente, este efeito não foi observado no presente estudo devido à dose de micotoxina utilizada, visto que em estudo realizado por Suliman et al.²⁴ uma contaminação com somente 0,75 mg/kg, através de contaminação natural, foi suficiente para causar alterações bioquímicas, lesões hepáticas e óbitos. Isto se deve, provavelmente, ao fato da aflatoxina apresentar maior toxicidade quando proveniente de contaminações naturais da

dieta, em relação à sua forma purificada. Esta diferença parece ser causada pelo sinergismo existente entre a aflatoxina e outras micotoxinas²⁵. Em relação aos valores fisiológicos para a espécie, Lima et al.²⁶ observaram valores similares aos obtidos neste estudo em relação aos parâmetros ruminiais de ovelhas sadias, submetidas também a uma dieta a base de concentrado e feno, demonstrando que o adsorvente utilizado e a presença de aflatoxina na dieta não apresentaram efeito sobre a microbiota ruminal.

A presença de aflatoxina e/ou adsorvente na dieta influenciou de alguma forma a atividade bacteriana ruminal, como demonstrado pelo teste de oxirredução, porém, novos estudos devem ser realizados para determinar as razões deste efeito, visto que o resultado foi inverso ao esperado, de acordo com os resultados observados por Westlake, Mackie e Dutton³.

Baseado nos resultados obtidos neste estudo pode-se observar que a concentração de aflatoxina utilizada neste experimento não foi suficiente para causar alterações clínicas ou ruminiais em ovinos confinados.

Conclusão

Neste estudo, observou-se que o uso de adsorvente glucomanano modificado aumentou os níveis de eosinófilos, não sendo observado efeito da aflatoxina sobre a função ruminal e parâmetros leucocitários (linfócitos, eosinófilos e neutrófilos segmentados) e eritrocitários (eritrócitos, hemoglobina e hematócrito) de ovinos.

Referências

1. EDRINGTON, T. S.; HARVEY, R. B.; KUBENA, L. F. Effect of aflatoxin in growing lambs fed ruminally degradable or escape protein sources. *Journal of Animal Science*, v. 72, n. 5, p. 1274-1281, 1994.
2. YIANNIKOURIS, A.; JOUANY, J-P. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Animal Research*, v. 51, n. 2, p. 81-99, 2002.
3. WESTLAKE, K.; MACKIE, R. I.; DUTTON, M. In vitro metabolism of mycotoxins by bacterial, protozoal and ovine ruminal fluid preparations. *Animal Feed Science and Technology*, v. 25, n. 1-2, p. 169-178, 1989.
4. FERNANDEZ, A.; HERNANDEZ, M.; SANZ, M. C.; VERDE, M. T.; RAMOS, J. J. Serological serum protein fraction and responses to *Brucella melitensis* in lambs fed aflatoxins. *Veterinary and Human Toxicology*, v. 39, n. 3, p. 137-140, 1997.

5. CORRIER, D. E. Mycotoxicosis: mechanisms of immunosuppression. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 30, n. 1, p. 73-87, 1991.
6. SHARMA, R. P. Immunotoxicity of mycotoxins. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 3, p. 892-897, 1993.
7. GALLO, A.; MASOERO, F. In vitro models to evaluate the capacity of different sequestering agents to adsorb aflatoxins. **Italian Journal of Animal Science**, v. 9, n. 21, p. 109-116, 2010.
8. ARAVIND, K. L.; PATIL, V. S.; DEVEGOWDA, G.; UMAKANTHA, B.; GANPULE, S. P. Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. **Poultry Science**, v. 82, n. 4, p. 571-576, 2003.
9. RABASSA, V. R.; SCHWEGLER, E.; GOULART, M. A.; LOPES, M. S.; HOFFMANN, D. A. C.; LISBOA, F. P.; VENDRAMIN, L.; ROLL, V. F. B.; DIAZ, G. J.; DEL PINO, F. A. B.; CORRÊA, M. N. Parâmetros metabólicos de ovelhas submetidas a dietas contendo aflatoxina e zearalenona com adição de glucomanano modificado. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 1, p. 67-73, 2010.
10. NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrients requirements of small ruminants**. Washington, D.C.: National Academy Press, 2007. p. 362.
11. RUSSEL, A. J. F.; DONEY, J. M.; GUNN, R. G. Subjective assessment of body fat in sheep. **Journal Agricultural Science**, v. 72, p. 451-454, 1969.
12. DIRKSEN, G.; GRUNDER, H.-D.; STÖBER, M. **Rosemberger: exame clínico de ruminantes**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 419.
13. GEISHAUSER, T.; GITZEL, A. A comparison of rumen fluid sampled by oro-ruminal probe versus rumen fistula. **Small Ruminant Research**, v. 21, n. 3, p. 63-69, 1996.
14. THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p. 582.
15. BRAUN, U.; NUSS, K.; WEHBRINK, D.; RAUCH, S.; POSPISCHIL, A. Clinical and ultrasonographic findings, diagnosis and treatment of pyelonephritis in 17 cows. **The Veterinary Journal**, v. 175, n. 2, p. 240-248, 2008.
16. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS). **Principles and procedure of statistics**. 2. ed. Cary: Mc Graw-Hill Inc., 1986.
17. ECHEVARRIA, F. A. M. Epidemiologia de nematódeos e o controle integrado em ovinos lanados. In: PADILHA, T. **Controle dos nematódeos gastrintestinais em ruminantes**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1996. p. 157-178.
18. VENTURINI, M. C.; QUIROGA, M. A.; RISSO, M. A.; DI LORENZO, C.; OMATA, Y.; VENTURINI, L.; GODOY, H. Mycotoxin T-2 and aflatoxin B₁ as immunosuppressors in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 115, n. 3, p. 229-237, 1996.
19. SAHOO, P. K.; MUKHERJEE, S. C. Effect of dietary β -1,3 glucan on immune responses and disease resistance of healthy and aflatoxin B₁-induced immunocompromised rohu (*Labeo rohita* Hamilton). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 11, n. 8, p. 683-695, 2001.
20. DAWKINS, H. J. S.; WINDON, R. G.; EAGLESON, G. K. Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. **International Journal for Parasitology**, v. 19, n. 2, p. 199-205, 1989.
21. BUDDLE, B. M.; JOWETT, G.; GREEN, R. S.; DOUCH, P. G. C.; RISDON, P. L. Association of blood eosinophilia with the expression of resistance in Romney lambs to nematodes. **International Journal for Parasitology**, v. 22, n. 7, p. 955-960, 1992.
22. BALIC, A.; CUNNINGHAM, C. P.; MEEUSEN, E. N. T. Eosinophil interactions with *Haemonchus contortus* larvae in the ovine gastrointestinal tract. **Parasite Immunology**, v. 28, n. 3, p. 107-115, 2006.
23. FUKUDA, E. K.; VASCONCELOS, A. F. D.; MATIAS, A. C.; BARBOSA, A. M.; DEKKER, R. F. H.; SILVA, M. L. C. Polissacarídeos de parede celular fúngica: purificação e caracterização. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 1, p. 117-134, 2009.
24. SULIMAN, H. B.; MOHAMED, A. F.; AWADELSIED, N. A.; SHOMMEIN, A. M. Acute mycotoxicosis in sheep: Field cases. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 29, n. 3, p. 241-243, 1987.
25. APPLEBAUM, R. S.; BRACKETT, R. E.; WISEMAN, D. W.; MARTH, E. H. Response of dairy cows to dietary aflatoxin: Feed intake and yield, toxin content and quality of milk of cows treated with pure and impure aflatoxin. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 8, p. 1503-1508, 1982.
26. LIMA, M. E.; VENDRAMIN, L.; HOFFMANN, D. A. C.; LISBOA, F. P.; GALLINA, T.; RABASSA, V. R.; SCHWEGLER, E.; CORRÊA, M. N. Alterações na população de protozoários ruminais, quantificados a partir da adaptação da técnica de Dehority, de ovinos submetidos a uma dieta de confinamento. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 40, n. 1, p. 1-6, 2012.